昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, December 2014, 57(12): 1439 - 1446 ISSN 0454-6296

昆虫 DNA 甲基化的特点和功能

梁士可，张 梅，梁梓强，李广宏，王方海*

（中山大学有害生物控制与资源利用国家重点实验室/昆虫学研究所，广州 510275）

摘要：DNA 甲基化为表观遗传修饰的一种主要形式，对基因表达的调控具有重要作用。近年来随着有关昆虫 DNA 甲基化的研究和报道增多，发现昆虫 DNA 甲基化除了与高等哺乳动物有一定的相似性之外，还具有独特的特点和功能。本文就昆虫 DNA 甲基化的主要特点和功能进行了综述，以期为进一步研究昆虫 DNA 甲基化提供借鉴和参考。不同昆虫所具有的 DNA 甲基转移酶种类和性质差异较大，且昆虫 DNA 甲基化具有甲基化水平较低、主要发生在基因区等特点，其功能主要涉及到调节胚胎发育、参与基因组印迹、调控级型和翅型分化、影响性别决定、介入抗药性形成等。

关键词：昆虫；DNA 甲基化；表观遗传；级型分化；翅形分化；抗药性

中图分类号：Q966 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2014)12-1439-08

Characteristics and functions of DNA methylation in insects

LIANG Shi-Ke, ZHANG Mei, LIANG Zi-Qiang, LI Guang-Hong, WANG Fang-Hai* (State Key Laboratory for Biocontrol/Institute of Entomology, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: DNA methylation, one important form of epigenetic modifications, plays an important role in gene regulation in animals. With more attentions paid to DNA methylation in insects in recent years, it was found that besides certain similarities between insects and mammals, there are also some unique features and functions in DNA methylation of insects. Here, we reviewed the advances in researches on DNA methylation in insects and focused on its main characteristics and functions so as to provide some references for further exploring DNA methylation in insects. The type and nature of DNA methyltransferase vary widely across insect species, and the DNA methylation mainly occurs in gene areas in insects and the level is low. The functions of DNA methylation in insects mainly involve the regulation of embryonic development, participation in genomic imprinting, regulation of caste and wing differentiation, sex determination, and involvement in pesticide resistance.

Key words: Insects; DNA methylation; epigenetics; caste differentiation; wing differentiation; pesticide resistance

DNA 甲基化是一种酶促的化学修饰过程，通常由 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, Dnmt)催化，将 S-腺苷甲硫氨酸上的甲基基团转移到胞嘧啶(C)上，从而使其转变为 5-甲基胞嘧啶(mC)(Adams *et al.*, 1996)。该修饰过程不会改变 DNA 的基本结构，且部分类型的 DNA 甲基化能被子细胞遗传，成为表观遗传的一种重要形式，长期以来一直是表观遗传领域的研究重点和热点(Glastad *et al.*, 2011)。高等动、植物的研究(特别是哺乳动物的大量研究)表明 DNA 甲基化在调节基因表达、转座子活性控制、调节染色体结构、基因印记、胚胎发育和调控、以及肿瘤发生过程等方面都发挥着重要的作用(Yoder *et al.*, 1997; Feil and Khosla, 1999; Jair *et al.*, 2006; Young *et al.*, 2006; Mandrioli, 2007; Maunakea, *et al.*, 2010)。

相对于哺乳动物，昆虫的甲基化研究还相对滞后。尽管早期发现西方蜜蜂 *Apis mellifera* 有全套甲基化酶系，但随后发现黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 等昆虫甲基化水平很低或不存在，因此认为昆虫中很少存在甲基化，而家蚕 *Bombyx mori* 的全基因组甲基化图谱则展示了不一样的格局，特别是在西方蜜蜂中发现不仅存在 DNA 甲基

基金项目：国家自然科学基金项目(31171844)；广东省自然科学基金项目(S2011010001353, 031628)

作者简介：梁士可，男，1989 年生，河南信阳人，硕士研究生，研究方向为昆虫分子生物学，E-mail：13460164430@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: lsswfh@mail.sysu.edu.cn

收稿日期 Received：2014-08-15；接受日期 Accepted：2014-10-17

化现象且其在调控级型分化过程中起着重要的作用，后来又逐渐兴起了对昆虫甲基化的探讨。随着近几年 DNA 甲基化研究方法的不断改进和创新，特别是大规模测序技术的飞跃发展，使得从整个基因组水平测定和分析甲基化谱成为可能，有关昆虫的甲基化研究取得了一定的进展和成果。如通过对印度跳蚁 *Harpegnathos saltator*、家蚕、西方蜜蜂、白背飞虱 *Sogatella furcifera* 等昆虫的研究发现，昆虫中不仅存在大量 DNA 甲基化现象，且在调控昆虫生长发育和多型性等方面发挥着重要作用。本综述拟重点阐述昆虫 DNA 甲基化的主要特点和功能。

1 昆虫 DNA 甲基化的特点

1.1 不同昆虫所具有的 DNA 甲基转移酶种类和性质差异较大

DNA 甲基化主要发生在胞嘧啶 C 上，其建立和维持需要 DNA 甲基转移酶参与。在哺乳动物中，根据 DNA 甲基转移酶的催化活性特点将其划分为三大类，即 Dnmt1，Dnmt2 和 Dnmt3（又分 a 和 b 两种类型）（Klose and Bird，2006）。Dnmt1 称为维持型甲基化酶，是在 DNA 进行半保留复制时，使新合成的链进行甲基化，且甲基化式样和位置与模板链上发生的甲基化式样和位置完全对应（Bestor，2000；Goll and Bestor，2005）；Dnmt3 能够催化 DNA 从头甲基化，从而可以使基因组 DNA 呈现出新的甲基化式样，这一过程主要发生在生物体发育的早期阶段（Okano *et al*.，1999；Kato *et al*.，2007）；Dnmt2 起初被认为也是一种 DNA 甲基化酶，但最近的研究表明 Dnmt2 主要是使 tRNA 甲基化（Goll *et al*.，2006），因此其功能完全不同于 Dnmt1 和 Dnmt3。昆虫不同物种所具有的 DNA 甲基转移酶往往并不一样，差异较大，主要有下面几种情况。

1.1.1 只具有 Dnmt2：果蝇体内不存在 Dnmt1 和 Dnmt3，只具有 Dnmt2（Marhold *et al*.，2004）。Dnmt2 在果蝇体内可以介导非 CpG 的甲基化（Kunert *et al*.，2003），且该酶在同属的其他种中也普遍存在，提示 Dnmt2 介导的甲基化可能是保守的，然而在哺乳动物体内 Dnmt2 并不能催化 DNA 甲基化，仅能催化 tRNA 的甲基化（Goll *et al*.，2006）。说明果蝇体内 DNA 甲基化系统或机制应该有别于哺乳动物。

1.1.2 具有 Dnmt1 和 Dnmt2：在家蚕基因组中发现了 Dnmt1 和 Dnmt2 的同源基因，但缺少 Dnmt3 的同源基因（Mita，*et al*.，2004），故家蚕中应该不具有 Dnmt3。由于 Dnmt3 能够催化 DNA 从头甲基化，通常不具有此酶的物种往往缺乏 DNA 甲基化或甲基化频率很低。如不具有 Dnmt3 的赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*，其基因组就不存在甲基化现象（Zemach *et al*.，2010）；同样不具有 Dnmt3 的果蝇体内甲基化频率则很低。可是家蚕的甲基化图谱显示，家蚕中 CpG 和非 CpG 类型的甲基化广泛存在（Xiang *et al*.，2010），同样沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* 也没有 Dnmt3，但 CpG 类型的甲基化也广泛存在（Falckenhayn *et al*.，2013）。从而表明家蚕和沙漠蝗的甲基化形成和维持的机制有可能不同于哺乳动物，需要进一步深入研究。

1.1.3 具有完整的 DNA 甲基转移酶系统 Dnmt1，Dnmt2 和 Dnmt3：西方蜜蜂是第一个被发现拥有全部种类的甲基转移酶系统（Wang *et al*.，2006），随着越来越多的昆虫物种基因组的测定和公布，人们发现多种昆虫拥有 Dnmt1，Dnmt2 和 Dnmt3 全套酶系统，如豌豆长管蚜 *Acyrthosiphon pisum*（Walsh *et al*.，2010）、印度跳蚁和佛罗里达弓背蚁 *Camponotus floridanus*（Bonasio *et al*.，2010）、红火蚁 *Solenopsis invicta*（Wurm *et al*.，2011）、红色收获蚁 *Pogonomyrmex barbatus*（Smith *et al*.，2011b）、阿根廷蚁 *Linepithema humile*（Smith *et al*.，2011a）、大头美切叶蚁 *Atta cephalotes*（Suen *et al*.，2011）、淡水枝角水蚤 *Daphnia pulex*（Colbourne *et al*.，2011）、丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis*（Werren *et al*.，2010）等等。这些昆虫种类也被先后证明确实存在 DNA 甲基化现象（Glastad *et al*.，2011）。从已有的研究来看，这一类昆虫的甲基化系统或机制是最接近于哺乳动物的。

1.2 甲基化水平较低

在昆虫中总体来说甲基化水平比哺乳动物要低得多。从已有研究报道来看，极少数昆虫不存在 DNA 甲基化，如赤拟谷盗成虫的基因组就不存在甲基化现象（Zemach *et al*.，2010）。部分物种只在特定发育阶段有一定水平的甲基化现象，如果蝇只在胚胎发育早期阶段可以检测到 DNA 甲基化现象的存在，且水平极低，整个基因组胞嘧啶被甲基化的水平低于 1%，在其他发育阶段，则甲基化水平还要低得多，如成虫阶段胞嘧啶被甲基化的水平仅约 1/1 300（Gowher *et al*.，2000），用经典常规的方法已很难检测到（Lyko，2001）；用高效液相色谱测得家蚕 *B. mori* 丝腺中基因组胞嘧啶甲基化水平在

0.15% ~0.19%之间(Patel and Gopinathan, 1987)；采用新一代高通量测序手段与重亚硫酸盐处理方法相结合的基因组甲基化谱研究发现，丽蝇蛹集金小蜂雌成虫中胞嘧啶甲基化率为 0.18% （Beeler *et al*., 2014），蜜蜂为0.8%（Lyko *et al*., 2010），佛罗里达弓背蚁和印度跳蚁分别为 0.14% ~0.16% 和 0.11% ~0.12% （Bonasio *et al*., 2012），在沙漠蝗成虫的脑和后胸神经节则分别测得胞嘧啶甲基化率为1.3%和1.4%（Falckenhayn *et al*., 2013）。甘蓝夜蛾 *Mamestra brassicae* 幼虫或成虫组织中，基因组胞嘧啶甲基化水平达到 10% 左右(Mandrioli and Volpi, 2003)，在目前所有已检测的昆虫中，该甲基化水平是最高的。从以上数据不难看出，绝大多数昆虫的甲基化水平都很低，整个基因组胞嘧啶被甲基化的水平只有少数超过1%。总之，目前认为昆虫中胞嘧啶甲基化水平在0 ~10%，而哺乳动物和鸟类在3% ~10%，鱼类和两栖类在10%左右，而某些植物中可高达50%（Krauss *et al*., 2009），因此与高等动、植物相比，昆虫甲基化水平确实较低。

1.3　以 CpG 位点上的 C 甲基化为主，但其他位点上 C 甲基化也有少量发生

在已研究过的各种真核生物中，DNA 甲基化均发生在胞嘧啶 C 上。哺乳动物的甲基化基本发生在 CpG 二核苷酸的 C 上，植物则在 CpG 和非 CpG 上的 C 均可发生甲基化。在已报道的昆虫中，除了果蝇的甲基化主要发生在 CpT 和 CpA 以外(Lyko *et al*., 2000)，其他昆虫的甲基化则主要发生在 CpG 上(相辉和王文，2009)。如丽蝇蛹集金小蜂的甲基化只发生在 CpG 上，而基因组非 CpG 位点上则未发现甲基化现象(Wang *et al*., 2013)；家蚕的甲基化谱研究显示，家蚕中既有 CpG 类型的甲基化，也有非 CpG 类型的甲基化，主要是 CHG 和 CHH （H 代表 C，A 或者 T)中的 C 也能够被甲基化，不过高甲基化 C 基本上还是出现在 CpG 上，如从整个甲基化比例来看，CpG 位点的甲基化达到总甲基化水平的99.2%，而非 CpG 位点上的甲基化只有总甲基化水平的 0.8% （Xiang *et al*., 2010）。此外，在越南低温竹节虫 *Medauroidea extradentata*、佛罗里达弓背蚁和印度跳蚁等昆虫中，也发现了非 CpG 类型的甲基化存在，但只是少量存在，绝大多数甲基化还是发生在 CpG 位点上(Krauss *et al*., 2009；Bonasio *et al*., 2012)。

1.4　DNA 甲基化主要发生在基因区

在脊椎动物中 DNA 甲基化遍及整个基因组(Suzuki and Bird, 2008；Okamura *et al*., 2010)，在多数哺乳动物中 60% ~90% 的所有 CpG 二核苷酸是甲基化的(Ehrlich *et al*., 1982；Lister *et al*., 2009)。由于昆虫的甲基化水平较低，其 DNA 甲基化在整个基因组上是零散分布的，且主要集中在基因区。家蚕基因组甲基化谱显示，基因区(编码区 + 内含子)的甲基化水平高于基因组平均水平，转座子的甲基化水平则较低，而核糖体 DNA （rDNA）未发现甲基化现象；进一步研究发现，基因 3′下游 2 kb 区域甲基化水平稍高于 5′上游 2 kb 区域，但均明显低于基因区域内的甲基化水平(Xiang *et al*., 2010)。在丽蝇蛹集金小蜂中，甲基化同样主要发生在基因区，达到总甲基化水平的 79.86%，而其他区域的甲基化水平只占总甲基化水平的20.14%，且未能检测到转座子的甲基化(Beeler *et al*., 2014)。此外，在蜜蜂、甘蓝夜蛾、丽蝇蛹集金小蜂、佛罗里达弓背蚁和印度跳蚁等昆虫中，CpG 甲基化也是同样倾向于富集在基因区，且转座子和重复序列(如 rDNA)甲基化水平很低或根本检测不到(Mandrioli and Volpi, 2003；Bonasio *et al*., 2012；Shi *et al*., 2013；Wang *et al*., 2013)。在越南低温竹节虫和沙漠蝗中，虽然重复序列 rDNA、转座子等也高度甲基化，但甲基化同样主要发生在基因区，尤其是基因的外显子区(Krauss *et al*., 2009；Falckenhayn *et al*., 2013)。即使在情况比较特殊的果蝇中，因其甲基化主要发生在非 CpG 序列上，也是较早发现重复序列和转座子具有甲基化现象的昆虫，但根据 Salzberg 等(2004)的报道，他们共分析了果蝇的 27 个甲基化片段，有 9 个片段可以归类于重复序列或者转座子，而其余的则属于基因区片段，由此可知，基因区的甲基化片段达到了 2/3 的比例，说明也是以基因区甲基化为主。

2　昆虫 DNA 甲基化的功能

由于昆虫 DNA 甲基化主要发生在基因区域，故认为其可以调节基因转录的起始位点或 mRNA 的剪接方式，起到抑制错误的转录起始(Tran *et al*., 2005；Zilberman *et al*., 2007)和限制环境刺激对基因表达的改变等作用(Aceituno *et al*., 2008)。近几年的研究表明，DNA 甲基化通过改变基因的表达方式，还可以直接影响昆虫的发育分化，具体来说其可涉及到胚胎发育、基因组印迹、级型分化、翅型分化、性别分化和抗药性等的调控过程。

2.1 对胚胎发育的影响

有关丽蝇蛹集金小蜂的研究显示，该蜂不但具有 DNA 甲基化现象，且具有完整的 DNA 甲基转移酶系统，包含有 3 个 Dnmt1（Dnmt1a，Dnmt1b 和 Dnmt1c）基因和一个 Dnmt2 及 Dnmt3 基因。深入研究发现，所有 Dnmt1 mRNA 和 Dnmt3 mRNA 是由母体提供给胚胎的，若通过 RNA 干涉降低母体 Dnmt1a mRNA，可导致胚胎死于原肠胚初期。由此可知，在丽蝇蛹集金小蜂的早期胚胎发生期间，Dnmt1a mRNA 是必须的，表明 DNA 甲基化在该蜂的胚胎发育早期阶段起着重要的作用（Wang *et al*., 2013）。这与哺乳动物的研究结果有点类似，有报道称哺乳动物中甲基转移酶的缺失或者过量表达都会严重影响胚胎正常发育甚至死亡（Goll and Bester, 2013）。

2.2 参与基因组印迹（genomic imprinting）

桔粉介壳虫 *Planococcus citri* 为同翅目昆虫，没有性染色体，雌性个体为正常的二倍体型，而雄性个体由于其中一条同源染色体高度异质化而失活。调查发现，该虫雄性和雌性胚胎中均观察到来自父本染色体比母本来源染色体的甲基化水平要低，由此认为，在粉蚧中这种甲基化水平的降低有可能作为雄性个体中父本同源染色体异质化所识别的表观遗传学标记。有趣的是，作为表观遗传标记，DNA 低甲基化在粉蚧中是染色体失活的标志，而不同于脊椎动物中代表转录活性的标志（Bongiorni *et al*., 1999；Bongiorni and Prantera, 2003）。另外，在佛罗里达弓背蚁和印度跳蚁中，发现所有调查样品中单等位基因和非 CpG 位点均存在 DNA 甲基化现象，故认为在这类昆虫中 DNA 甲基化也应参与了基因组的调节作用，包括亲本或级型特异的基因组印迹（Bonasio *et al*., 2012）。

2.3 调控级型分化

蜜蜂为典型的社会性昆虫，工蜂和蜂王都是由受精卵发育而来，孵化后仅前几天食用蜂王浆的幼虫将发育为工蜂，但一直食用蜂王浆的幼虫则发育成蜂王。蜂王个体较大，具有极强的繁殖能力，而工蜂个体较小，主要负责采集、哺育、舞蹈、守卫等劳动行为，不具有繁殖能力。工蜂和蜂王的遗传物质完全相同，仅由于营养条件的不同使得它们在形态和生殖能力等方面存在着显著差异（王亚南和冯成强，2012）。近年来关于蜜蜂级型分化机制的研究已经取得了突破性进展，发现营养是通过特定 DNA 甲基化的改变来调控工蜂和蜂王级型分化的。具体研究显示蜂王与工蜂的甲基化水平和式样存在明显差异，并且发现蜜蜂关键日龄（3 日龄）后期幼虫体内基因组 CpG 甲基化水平是决定其级型分化的主要因子，若运用 RNA 干扰技术沉默 DNA 甲基转移酶 3，来降低刚孵化幼虫的甲基化水平，则会导致这些幼虫改变了发育轨迹，像始终被喂养蜂王浆的幼虫一样，最终发育成蜂王（Kucharski *et al*., 2008）。此外，Patalano 等（2012）也曾撰文指出蚂蚁等社会性昆虫的级型分化现象与表观遗传修饰，特别是 DNA 甲基化相关。

2.4 影响翅型分化

白背飞虱为水稻重要害虫，成虫有长、短翅两种类型。长翅型成虫具有较强的飞行能力，可大范围内迁移扩散；短翅型成虫则繁殖力很强，具有产卵量大且产卵期长等特点，从而可使种群数量在短期内快速增长。因此，成虫的长、短翅型比率发生动态是预测稻飞虱数量和危害的一个重要参数（张琼秀等，2008）。长期以来人们一直致力于研究该虫翅型分化的机制，本研究组利用甲基化敏感的扩增多态性分析方法（MSAP）对白背飞虱雌成虫长、短翅型的基因组 DNA 进行了甲基化分析，利用 36 对引物组合，扩增到的条带多数介于 100 ~ 600 bp 之间，显示出的带型既有全甲基化的 5′-CCGG-3′位点，也有半甲基化的 5′-CCGG-3′位点。发现长翅型样品和短翅型样品的带型存在明显差异，统计结果显示长翅型雌成虫 CCGG 位点的半甲基化率为 8.35%，比短翅型雌成虫的 4.35% 要高得多，而长翅型雌成虫 CCGG 位点的全甲基化率为 2.40%，比短翅型雌成虫的 5.81% 要低得多，说明不同翅型间虫体基因组的甲基化式样应有所不同（Zhou *et al*., 2013）。这表明 DNA 甲基化很有可能参与了白背飞虱翅型分化的过程。

2.5 参与性别分化的调控

DNA 甲基化对性别分化的影响，早已在蜜蜂中被证实（Elango *et al*., 2009）。在欧洲熊蜂 *Bombus terrestris* 中，研究发现雄虫基因组在胚胎发生的早期阶段被高度甲基化，而且幼虫发育的各个阶段及雌、雄成虫间的 DNA 甲基化谱存在明显的不同，具有一定的特异性，故认为由于 DNA 的甲基化不同，导致不同性别的幼虫和成虫中 DNA 转录表达的不同，从而最终导致性别分化（Bigot *et al*., 2011）。此外，在桔粉介壳虫、白背飞虱、佛罗里达弓背蚁和印度跳蚁等昆虫中均发现雌、雄成虫间 DNA 甲基化式样存在明显的不同（Bongiorni *et al*., 1999；Bongiorni

and Prantera, 2003；Bonasio *et al*., 2012；周晓穗等，2013)，说明在昆虫中 DNA 甲基化参与性别分化的调控可能是广泛存在的。

2.6　DNA 甲基化与昆虫抗药性

在桃蚜 *Myzus persicae* 中，对部分农药产生抗性的品系，通常都是其体内对农药起解毒作用的酯酶基因获得了扩增，最大可达到 8 个拷贝，从而可以生产出超量的酯酶，形成对某些农药的抗性(Field *et al*., 1999)。采用甲基化敏感的限制性内切酶的实验方法，对桃蚜抗性品系中的扩增的多拷贝酯酶基因和敏感品系中的单拷贝酯酶基因进行甲基化检测，发现扩增的多拷贝酯酶基因中存在 5-甲基胞嘧啶，而单拷贝基因未被甲基化(Field, 2000)。说明在桃蚜中酯酶基因的甲基化与该基因的扩增事件相关联。在麦二叉蚜 *Schizaphis graminum* 中，也是通过扩增一种酯酶基因而对某些杀虫剂产生抗性的，巧合的是这个扩增的酯酶序列也是被甲基化的(Ono *et al*., 1999)。由此可知，DNA 甲基化参与了部分昆虫抗药性的形成。

吡虫啉是一种烟碱类杀虫剂，常用来防治水稻上的重要害虫褐飞虱，由于生产上的连续大量使用，目前褐飞虱对吡虫啉已产生了抗药性(Zhang *et al*., 2011)。董德臻等(2013)为了探究 DNA 甲基化是否参与了褐飞虱抗药性的产生，采用扩增片段长度多态性(AFLP)分子标记技术检测褐飞虱抗药性产生过程中 DNA 甲基化多态性的变化，结果发现，在吡虫啉对褐飞虱抗药性筛选的早期世代，基因组甲基化突变的频率较低，这可能与褐飞虱为应对抗性筛选而采取的基因组防御手段有关；在筛选的中期世代，基因组甲基化突变的频率波动较大，这或许反映出褐飞虱通过基因组的自身调节来适应环境的变化过程；在筛选的晚期世代，基因组甲基化突变的频率波动较小，可能预示褐飞虱已经在种群中寻找出能够应对吡虫啉筛选的基因型表达模式，并且这种模式在种群世代间可以较稳定的遗传。该研究表明在褐飞虱对吡虫啉抗药性产生的过程中，其基因组会发生一定数量的甲基化改变，换言之，甲基化可能参与了抗药性的形成，但具体机制还有待探讨。

此外，在昆虫中除了以上提到的 DNA 甲基化的功能外，还有人认为在果蝇中 DNA 甲基化可能对转座子的活性起到调节作用，在甘蓝夜蛾中，较高水平的基因组甲基化也有可能具有维持基因组稳定性的作用(Field *et al*., 2004)，而在另一项研究中发现蜜蜂的 DNA 甲基化涉及到记忆过程(Lockett *et al*., 2010)。随着今后研究的进一步深入和所研究的昆虫种类增多后，相信会有更多的甲基化功能被发现和报道。

3　小结与展望

DNA 甲基化是表观遗传修饰的一种重要形式，在植物和高等动物中已得到广泛和深入的研究，而在昆虫中的研究则相对缓慢得多，不过随着各种新技术的发展，近几年涌现出很多有关昆虫甲基化方面的研究报道。根据现有的文献资料，本文重点阐述了昆虫的 DNA 甲基化特点和相关功能。总体来说，昆虫 DNA 的甲基化与哺乳动物相比，既有一定的相似性，也有很多独特的特点，这可能与昆虫种类太多，生活环境复杂多样有关。因此，不同种类的昆虫所具有的甲基化酶种类、DNA 甲基化水平以及甲基化发生的序列特点和功能往往有所不同，很难用统一的模式来阐述昆虫的 DNA 甲基化。随着越来越多的昆虫基因组和甲基化谱被测定和公开，及对具体物种的 DNA 甲基化功能不断深入研究，将有助于更全面地认识和掌握昆虫 DNA 甲基化的特点和功能，不但可以推动昆虫学科的进一步发展，也可补充和完善 DNA 甲基化这种表观遗传修饰的复杂机制和进化途径。

参考文献 (References)

Aceituno FF, Moseyko N, Rhee SY, Gutierrez RA, 2008. The rules of gene expression in plants: organ identity and gene body methylation are key factors for regulation of gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Genomics*, 9: 438.

Adams RLP, 1996. DNA methylation. In: Bittar EE ed. Principles of Medical Biology. Vol. 5. JAI Press Inc., New York. 33 – 66.

Beeler SM, Wong GT, Zheng JM, Bush EC, Remnant EJ, Oldroyd BP, Drewell RA, 2014. Whole-genome DNA methylation profile of the iewel wasp (*Nasonia vitripennis*). *G3*, 4: 383 – 388.

Bestor TH, 2000. The DNA methyltransferases of mammals. *Hum. Mol. Genet*., 9: 2395 – 2402.

Bigot Y, Jegot G, Casteret S, Aupinel P, Tasei JN, 2011. DNA modifications and genome rearrangements during the development and sex differentiation of the bumble bee *Bombus terrestris*. *Insect Mol. Biol*., 20(2): 165 – 175.

Bonasio R, Li Q, Lian J, Mutti NS, Jin L, Zhao H, Zhang P, Wen P, Xiang H, Ding Y, Jin Z, Shen SS, Wang Z, Wang W, Wang J, Berger SL, Liebig J, Zhang G, Reinberg D, 2012. Genome-wide and caste-specific DNA methylomes of the ants *Camponotus floridanus* and *Harpegnathos saltator*. *Curr. Biol*., 22:

1755 – 1764.

Bonasio R, Zhang GJ, Ye C, Mutti NS, Fang X, Qin N, Donahue G, 2010. Genomic comparison of the ants *Camponotus floridanus* and *Harpegnathos saltator*. *Science*, 329: 1068 – 1071.

Bongiorni S, Cintio O, Prantera G, 1999. The relationship between DNA methylation and chromosome imprinting in the coccid *Planococcus citri*. *Genetics*, 151: 1471 – 1478.

Bongiorni S, Prantera G, 2003. Imprinted facultative heterochromatization in mealybugs. *Genetica*, 117: 271 – 279.

Colbourne JK, Pfrender ME, Gilbert D, Thomas WK, Tucker A, Oakley TH, Tokishita S, Aerts A, Arnold GJ, Basu MK, Bauer DJ, Cáceres CE, Carmel L, Casola C, Choi JH, Detter JC, Dong Q, Dusheyko S, Eads BD, Fröhlich T, Geiler-Samerotte KA, Gerlach D, Hatcher P, Jogdeo S, Krijgsveld J, Kriventseva EV, Kültz D, Laforsch C, Lindquist E, Lopez J, Manak JR, Muller J, Pangilinan J, Patwardhan RP, Pitluck S, Pritham EJ, Rechtsteiner A, Rho M, Rogozin IB, Sakarya O, Salamov A, Schaack S, Shapiro H, Shiga Y, Skalitzky C, Smith Z, Souvorov A, Sung W, Tang Z, Tsuchiya D, Tu H, Vos H, Wang M, Wolf YI, Yamagata H, Yamada T, Ye Y, Shaw JR, Andrews J, Crease TJ, Tang H, Lucas SM, Robertson HM, Bork P, Koonin EV, Zdobnov EM, Grigoriev IV, Lynch M, Boore JL, 2011. The ecoresponsive genome of *Daphnia pulex*. *Science*, 331: 555 – 561.

Dong DZ, Dong YF, Ge ZM, Wang DM, Chen J, Lu YQ, 2013. Effects of imidacloprid on DNA methylation polymorphism in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). *Acta Entomologica Sinica*, 56(1): 39 – 46. [董德臻, 董燕飞, 葛周苗, 王冬梅, 陈杰, 卢泳全, 2013. 吡虫啉对褐飞虱 DNA 甲基化多态性的影响. 昆虫学报, 56(1): 39 – 46]

Ehrlich M, Gamasosa MA, Huang LH, Midgett RM, Kuo KC, McCune RA, Gehrke C, 1982. Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues or cells. *Nucleic Acids Res.*, 10: 2709 – 2721.

Elango N, Hunt BG, Goodisman MAD, Yi SV, 2009. DNA methylation is widespread and associated with differential gene expression in castes of the honeybee, *Apis mellifera*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106: 11206 – 11211.

Falckenhayn C, Boerjan B, Raddatz G, Frohme M, Schoofs L, Lyko F, 2013. Characterization of genome methylation patterns in the desert locust *Schistocerca gregaria*. *J. Exp. Biol.*, 216: 1423 – 1429.

Feil R, Khosla S, 1999. Genomic imprinting in mammals: an interplay between chromatin and DNA methylation? *Trends Genet.*, 15: 431 – 435.

Field LM, 2000. Methylation and expression of amplified esterase genes in the aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *Biochem. J.*, 349: 863 – 868.

Field LM, Blackman RL, Tyler-Smith C, Devonshire AL, 1999. Relationship between amount of esterase and gene copy number in insecticide-resistant *Myzus persicae* (Sulzer). *Biochem. J.*, 339: 737 – 742.

Field LM, Lyko F, Mandrioli M, Prantera G, 2004. DNA methylation in insects. *Insect Mol. Biol.*, 13(2): 109 – 115.

Glastad KM, Hunt BG, Yi SV, Goodisman MAD, 2011. DNA methylation in insects: on the brink of the epigenomic era. *Insect Mol. Biol.*, 20(5): 553 – 565.

Goll MG, Bestor TH, 2005. Eukaryotic cytosine methyltransferases. *Annu. Rev. Biochem.*, 74: 481 – 514.

Goll MG, Kirpekar F, Maggert KA, Yoder JA, Hsieh CL, Zhang XY, Golic KG, Jacobsen SE, Bestor TH, 2006. Methylation of tRNA (AsP) by the DNA methyltransferase homolog Dnmt2. *Science*, 311: 395 – 398.

Gowher H, Leismann O, Jeltsch A, 2000. DNA of *Drosophila melanogaster* contains 5-methylcytosine. *EMBO J.*, 19(24): 6918 – 6923.

Jair KW, Bachman KE, Suzuki H, Ting AH, Rhee I, Yen RWC, Baylin SB, Schuebel KE, 2006. De novo CpG island methylation in human cancer cells. *Cancer Res.*, 66: 682 – 692.

Kato Y, Kaneda M, Hata K, Kumaki K, Hisano M, KoharaY, Okano M, Li E, Nozaki M, Sasaki H, 2007. Role of the Dnmt3 family in de novo methylation of imprinted and repetitive sequences during male germ cell development in the mouse. *Hum. Mol. Genet.*, 16(19): 2272 – 2280.

Klose RJ, Bird AP, 2006. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem. Sci.*, 31: 89 – 97.

Krauss V, Eisenhardt C, Unger T, 2009. The genome of the stick insect *Medauroidea extradentata* is strongly methylated within genes and repetitive DNA. *PLoS ONE*, 4: e7223.

Kucharski R, Maleszka J, Foret S, Maleszka R, 2008. Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. *Science*, 319: 1827 – 1830.

Kunert N, Marhold J, Stanke J, Stach D, Lyko F, 2003. A Dnmt2-like protein mediates DNA methylation in *Drosophila*. *Development*, 130: 5083 – 5090.

Lister R, Pelizzola M, Dowen RH, Hawkins RD, Hon G, Tonti-Filippini J, Nery JR, Lee L, Ye Z, Ngo QM, Edsall L, Antosiewicz-Bourget J, Stewart R, Ruotti V, Millar AH, Thomson JA, Ren B, 2009. Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. *Nature*, 462: 315 – 322.

Lockett GA, Helliwell P, Maleszka R, 2010. Involvement of DNA methylation in memory processing in the honey bee. *NeuroReport*, 21(12): 812 – 816.

Lyko F, 2001. DNA methylation learns to fly. *Trends Genet.*, 17: 169 – 172.

Lyko F, Foret S, Kucharski R, Wolf S, Falckenhayn C, Maleszka R, 2010. The honey bee epigenomes: differential methylation of brain DNA in queens and workers. *PLoS Biol.*, 8: e1000506.

Lyko F, Ramsahoye BH, Jaenisch R, 2000. DNA methylation in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 408: 538 – 540.

Mandrioli M, 2007. A new synthesis in epigenetics: towards a unified function of DNA methylation from invertebrates to vertebrates. *Cell Mol. Life Sci.*, 64: 2522 – 2524.

Mandrioli M, Volpi N, 2003. The genome of the lepidopteran *Mamestra brassicae* has a vertebrate-like content of methylcytosine. *Genetica*, 119: 187 – 191.

Marhold J, Rothe N, Pauli A, Mund C, Kuehle K, Brueckner B, Lyko F, 2004. Conservation of DNA methylation in dipteran insects. *Insect Mol. Biol.*, 13(2): 117–123.

Maunakea AK, Nagarajan RP, Bilenky M, Ballinger TJ, D'Souza C, Fouse SD, Johnson BE, Hong C, Nielsen C, Zhao Y, Turecki G, Delaney A, Varhol R, Thiessen N, Shchors K, Heine VM, Rowitch DH, Xing X, Fiore C, Schillebeeckx M, Jones SJM, Haussler D, Marra MA, Hirst M, Wang T, Costello JF, 2010. Conserved role of intragenic DNA methylation in regulating alternative promoters. *Nature*, 466: 253–257.

Mita K, Kasahara M, Sasaki S, 2004. The genome sequence of silkworm, *Bombyx mori*. *DNA Res.*, 11: 27–35.

Okamura K, Matsumoto K, Nakai K, 2010. Gradual transition from mosaic to global DNA methylation patterns during deuterostome evolution. *BMC Bioinformatics*, 11: S2.

Okano M, Bell DW, Haber DA, Li E, 1999. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell*, 99: 247–257.

Ono M, Swanson JJ, Field LM, Devonshire AL, Siegfried BD, 1999. Amplification and methylation of an esterase gene associated with insecticide-resistance in greenbugs, *Schizaphis graminum* (Rondani) (Homoptera: Aphididae). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 29: 1065–1073.

Patalano S, Hore TA, Reik W, 2012. Shifting behaviour: epigenetic reprogramming in eusocial insects. *Current Opinion in Cell Biology*, 24: 367–373.

Patel CV, Gopinathan KP, 1987. Determination of trace amounts of 5-methylcytosine in DNA by HPLC. *Anal. Biochem.*, 164: 164–169.

Shi YY, Yan WY, Huang ZY, Wang ZL, Wu XB, Zeng ZJ, 2013. Genomewide analysis indicates that queen larvae have lower methylation levels in the honey bee (*Apis mellifera*). *Naturwissenschaften*, 100: 193–197.

Smith CD, Zimin A, Holt C, Abouheif E, Benton R, Cash E, Croset V, Currie CR, Elhaik E, Elsik CG, Fave MJ, Fernandes V, Gadau J, Gibson JD, Graur D, Grubbs KJ, Hagen DE, Helmkampf M, Holley JA, Hu H, Viniegra AS, Johnson BR, Johnson RM, Khila A, Kim JW, Laird J, Mathis KA, Moeller JA, Muñoz-Torres MC, Murphy MC, Nakamura R, Nigam S, Overson RP, Placek JE, Rajakumar R, Reese JT, Robertson HM, Smith CR, Suarez AV, Suen G, Suhr EL, Tao S, Torres CW, van Wilgenburg E, Viljakainen L, Walden KK, Wild AL, Yandell M, Yorke JA, Tsutsui ND, 2011a. Draft genome of the globally widespread and invasive Argentine ant (*Linepithema humile*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108: 5673–5678.

Smith CR, Smith CD, Robertson HM, Helmkampf M, Zimin A, Yandell M, Holt C, Hu H, Abouheif E, Benton R, Cash E, Croset V, Cume CR, Elhaik E, Elsik CG, Fave MJ, Fernandes V, Gibson JD, Graur D, Gronenberg W, Grubbs KJ, Hagen DE, Viniegra ASI, Johnson BR, Johnson RM, Khila A, Kim JW, Mathis KA, Munoz-Torres MC, Murphy MC, Mustard JA, Nakamura R, Niehuis O, Nigam S, Overson RP, Placek JE, Rajakumar R, Reese JT, Suen G, Tao S, Torres CW, Tsutsui ND, Viljakainen L, Wolschin F, Gadau J, 2011b. Draft genome of the red harvester ant *Pogonomyrmex barbatus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108: 5667–5672.

Suen G, Teiling C, Li L, Holt C, Abouheif E, Bornberg-Bauer E, Bouffard P, Caldera EJ, Cash E, Cavanaugh A, Denas O, Elhaik E, Favé MJ, Gadau J, Gibson JD, Graur D, Grubbs KJ, Hagen DE, Harkins TT, Helmkampf M, Hu H, Johnson BR, Kim J, Marsh SE, Moeller JA, Muñoz-Torres MC, Murphy MC, Naughton MC, Nigam S, Overson R, Rajakumar R, Reese JT, Scott JJ, Smith CR, Tao S, Tsutsui ND, Viljakainen L, Wissler L, Yandell MD, Zimmer F, Taylor J, Slater SC, Clifton SW, Warren WC, Elsik CG, Smith CD, Weinstock GM, Gerardo NM, Currie CR, 2011. The genome sequence of the leafcutter ant *Atta cephalotes* reveals insights into its obligate symbiotic lifestyle. *PLoS Genet.*, 7: e1002007.

Suzuki MM, Bird A, 2008. DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics. *Nat. Rev. Genet.*, 9: 465–476.

Tran RK, Henikoff JG, Zilberman D, Ditt RF, Jacobsen SE, Henikoff S, 2005. DNA methylation profiling identifies CG methylation clusters in *Arabidopsis* genes. *Curr. Biol.*, 15: 154–159.

Walsh TK, Brisson JA, Robertson HM, Gordon K, Jaubert-Possamai S, Tagu D, Edwards OR, 2010. A functional DNA methylation system in the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum*. *Insect Mol. Biol.*, 19: 215–228.

Wang X, Wheeler D, Avery A, Rago A, Choi JH, Colbourne JK, Clark AG, 2013. Function and evolution of DNA methylation in *Nasonia vitripennis*. *PLoS Genet.*, 9(10): e1003872.

Wang Y, Jorda M, Jones PL, Maleszka R, Ling X, Robertson HM, Mizzen CA, Peinado MA, Robinson GE, 2006. Functional CpG methylation system in a social insect. *Science*, 314: 645–647.

Wang YN, Feng CQ, 2012. Advances on the honeybee caste differentiation. *Apiculture of China*, 63: 17–21. [王亚南，冯成强，2012. 蜜蜂级型分化的研究进展. 中国蜂业，63: 17–21]

Werren JH, Richards S, Desjardins CA, Niehuis O, Gadau J, Colbourne JK, Werren JH, Richards S, Desjardins CA, Niehuis O, Gadau J, Colbourne JK, Beukeboom LW, Desplan C, Elsik CG, 2010. Functional and evolutionary insights from the genomes of three parasitoid *Nasonia* species. *Science*, 327(5963): 343–348.

Wurm Y, Wang J, Riba-Grognuz O, Corona M, Nygaard S, Hunt BG, Ingram KK, Falquet L, Nipitwattanaphon M, Gotzek D, Dijkstra MB, Oettler J, Comtesse F, Shih CJ, Wu WJ, Yang CC, Thomas J, Beaudoing E, Pradervand S, Flegel V, Cook ED, Fabbretti R, Stockinger H, Long L, Farmerie WG, Oakey J, Boomsma JJ, Pamilo P, Yi SV, Heinze J, Goodisman MAD, Farinelli L, Harshman K, Hulo N, Cerutti L, Xenarios I, Shoemaker D, Keller L, 2011. The genome of the fire ant *Solenopsis invicta*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108: 5679–5684.

Xiang H, Wang W, 2009. Advances of DNA methylation studies in insects. In: Proceedings of Entomological Society of Yunnan Province in 2009, Kunming. 270–275. [相辉，王文，2009. 昆虫 DNA 甲基化及其功能的研究进展. 见：云南省昆虫学会

2009 年年会论文集，昆明. 270－275］

Xiang H, Zhu JD, Chen Q, Dai FY, Li X, Li MW, Zhang HY, Zhang GJ, Li D, Dong Y, Zhao L, Lin Y, Cheng DJ, Yu J, Sun JF, Zhou XY, Ma KL, He YH, Zhao YX, Guo SC, Ye MZ, Guo GW, Li YR, Li RQ, Zhang XQ, Ma LJ, Kristiansen K, Guo QH, Jiang JH, Beck S, Xia QY, Wang W, Wang J, 2010. Single base-resolution methylome of the silkworm reveals a sparse epigenomic map. *Nature Biotechnology*, 28: 516－520.

Yoder JA, Walsh CP, Bestor TH, 1997. Cytosine methylation and the ecology of intragenomic parasites. *Trends Genet.*, 13: 335－340.

Young JI, Hong EP, Castle JC, Crespo-Barreto J, Bowman AB, Rose MF, 2006. Regulation of RNA splicing by the methylation-dependent transcriptional repressor methyl-CpG binding protein 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103: 1656－1656.

Zemach A, McDaniel IE, Silva P, Zilberman D, 2010. Genome-wide evolutionary analysis of eukaryotic DNA methylation. *Science*, 328: 916－919.

Zhang LL, Wang YX, Cen MS, Wang GD, 2011. Resistance monitoring and management strategy of brown rice planthopper against common insecticides. *Journal of Zhejiang Agricultural Science*, (1): 100－101.［张莉丽，汪严欣，岑铭松，王国迪，2011. 褐飞虱对常用药剂的抗性监测及抗性治理策略. 浙江农业科学，(1): 100－101］

Zhang QX, Sun ZX, Li GH, Wang FH, 2008. Effects of three kinds of exogenous hormones on wing dimorphism of *Sogatella furcifera* (Horvath). *Acta Ecologica Sinica*, 28(12): 5994－5998.［张琼秀，孙梓暄，李广宏，王方海，2008. 三种外源激素物质对白背飞虱(*Sogatella furcifera*)翅型分化的影响. 生态学报，28(12): 5994－5998］

Zhou XS, Chen JL, Zhang M, Liang SK, Wang FH, 2013. Differential DNA methylation between two wing phenotypes adults of *Sogatella furcifera*. *Genesis*, 51(12): 819－826.

Zhou XS, Chen JL, Zhang M, Wang FH, 2013. The improvement of MS-RDA and its application in *Sogatella furcifera* (Horvath). *Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 52(5): 118－122.［周晓穗，陈佳林，张梅，王方海，2013. MS-RDA 的改进及在白背飞虱的应用研究. 中山大学学报(自然科学版)，52(5): 118－122］

Zilberman D, Gehring M, Tran RK, Ballinger T, Henikoff S, 2007. Genome-wide analysis of *Arabidopsis thaliana* DNA methylation uncovers an interdependence between methylation and transcription. *Nat. Genet.*, 39: 61－69.

（责任编辑：赵利辉）